



Importancia de los Péptidos Catiónicos en la Respuesta Inmune Innata

*Cendry Alfaro*¹

Resumen

Actualmente, está clara la importancia de los péptidos catiónicos en la respuesta inmunitaria innata y existen gran cantidad de estudios que demuestran sus funciones en muchas especies de organismos, que van desde plantas hasta animales, incluyendo al ser humano. Los péptidos catiónicos se definen como péptidos codificados por un genoma (no sintéticos), que comprenden entre 12 y 50 aminoácidos, con al menos dos cargas positivas en exceso, dadas por residuos de lisina y arginina y cerca del 50% de los aminoácidos con características hidrofóbicas. Secuencias de aminoácidos con estas descripciones se han encontrado en proteínas como las defensinas y las catelicidinas, a lo cual se le atribuyen muchos de sus mecanismos de acción.

Introducción

Diariamente estamos expuestos a miles de microorganismos, a través de la ingestión, por el contacto con superficies infectadas y también por el simple hecho de respirar, sin dejar de lado que muchos de estos agentes son potenciales patógenos para el humano. La respuesta inmune adquirida tanto celular como humoral, tienen un impacto mínimo cuando estos microorganismos van a causar infección, ya que las bacterias crecen exponencialmente y un simple organismo puede producir millones de bacterias en menos de 24 horas. Contrastando con este hecho, para que la respuesta inmune adquirida responda en una primera infección, se debe producir una expansión clonal, que toma como mínimo 7 días y en el caso de una respuesta secundaria, al menos 3 días (5). La respuesta inmune innata incluye la respuesta inmune que no necesita la memoria inmunológica y permanece sin cambios, a pesar de que el antígeno sea encontrado repetidas veces por sus componentes (1).

Dentro de los componentes celulares de la respuesta inmune innata se encuentran los macrófagos, las células dendríticas, los eosinófilos, los basófilos, los mastocitos y las células NK. Cada uno de estos tipos celulares tienen mecanismos característicos para detectar y eliminar los microorganismos que entran en el cuerpo y no discriminan si es una primera infección (primer contacto con el organismo) o si ya ha ingresado en ocasiones anteriores y gracias a su

¹ Laboratorio Clínico, Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera", Caja Costarricense de Seguro Social. Correo electrónico: calfaror@hnn.sa.cr





ubicación en sitios estratégicos y al reconocimiento de sitios conservados de bacterias (como el LPS y el ácido lipoteicoico), la respuesta es inmediata y en pocas horas se pueden eliminar estos organismos que constantemente están en contacto con el cuerpo. Sumado a esto, se encuentran los factores solubles de la respuesta innata, donde se incluyen el complemento, las proteínas de fase aguda y las diferentes citoquinas (10). Debido a esto, el cuerpo depende de la respuesta inmune innata para prevenir este tipo de infecciones.

Los efectores de la respuesta inmune innata que tradicionalmente se han relacionado con esta defensa, son los componentes antes descritos. Sin embargo, este escenario estaría incompleto sin la presencia de un grupo de péptidos catiónicos antimicrobianos, uno de los componentes principales en la respuesta inmune innata y que han sido explicados recientemente. El término péptidos antimicrobianos catiónicos se usa para describir péptidos codificados por un genoma (no sintéticos) que comprenden entre 12 y 50 aminoácidos, con al menos dos cargas positivas en exceso dadas por residuos de lisina y arginina y cerca del 50% de los aminoácidos restantes con características hidrofóbicas (6).

Características de los péptidos catiónicos

Cientos de péptidos antibióticos se describieron en la última mitad del siglo anterior (5). Estos se dividen en dos clases: péptidos no sintetizados ribosomalmente (sintéticos), como las gramicidinas, los polimixinas, la bacitracina y los glicopéptidos, y los péptidos sintetizados ribosomalmente (naturales) (4). Los péptidos catiónicos naturales se encuentran en todas las especies de vida, desde plantas e insectos, hasta mamíferos, incluyendo moluscos, crustáceos, anfibios, pájaros, peces, mamíferos y el hombre (4, 6).

Los péptidos antibióticos naturales fueron descubiertos a través de dos líneas independientes de trabajo. La primera, eran estudios de los mecanismos por los cuales las células de la sangre (hemolinfa) de insectos inmunizados mataban las bacterias. La segunda línea eran estudios de los mecanismos a través de los cuales los fagocitos de los mamíferos mataban las bacterias dentro de las vacuolas fagocíticas (7). Estas líneas de pensamiento dividieron por mucho tiempo los resultados entre péptidos antibióticos en animales e insectos. La subsiguiente exploración de las capacidades funcionales de las proteínas y péptidos descritos en inflamación, más los métodos nuevos de purificación, definieron nuevas líneas y no fue hasta 1960 que la lisozima fue descrita con actividad contra bacterias Gram positivo (2). Así, en los años siguientes, nuevos péptidos y proteínas fueron descritos. Durante los años comprendidos entre 1987 y 1989, gran número de nuevos péptidos fueron aislados de diferentes especies de animales, lo cual dejó muy en claro que péptidos similares se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza (7).





Más de 500 de estos péptidos se han descubierto y su clasificación es difícil de hacer, así que se basa sobretodo en su estructura secundaria. Existe un catálogo *on line* de todos los reportes de estas moléculas que se han hecho hasta el momento y se encuentran en la dirección <http://www.bbcm.univ.trieste.it/~tossi/antimic.html> (13). Hay al menos cuatro posibles razones para explicar la gran diversidad de péptidos:

1. El espectro anti microbiano de cada péptido tiende a ser incompleto, lo que sugiere que ciertos péptidos cubren las deficiencias de los otros.
2. Diferentes péptidos anti microbianos trabajan de manera sinérgica entre sí.
3. Las actividades que no son propiamente anti microbianas, como anti endotóxica, quimiotáctica o pro inflamatoria, aparecen en algunos péptidos y se complementan con la actividad de los péptidos antimicrobianos.
4. Estos péptidos tienden a ser producidos exclusivamente por diferentes tipos de células, lo cual indica que algunos tejidos tienen rangos de acción característicos (5).

La clasificación que se ha hecho de los péptidos actualmente descritos, los divide por lo menos en las siguientes 4 clases estructurales, pero existe gran discrepancia al respecto y es común que diferentes autores agreguen o fusionen grupos (2):

- β -sheet: compuesto por dos a tres hojas β , estabilizados por puentes disulfuros.
- α -hélices.
- Estructuras extendidas.
- Estructuras loop.

Existen muchos ejemplos de la presencia de estas estructuras en diferentes animales. Además de estos, se halla gran variedad de proteínas catiónicas, las cuales incluyen la lactoferrina, la transferina, la catepsina G, la cistatina, la CAP18, el pepsinógeno C y las defensinas, cuya actividad anti microbiana, se puede atribuir a la secuencia de péptidos catiónicos dentro de su estructura (6).

Distribución y expresión genética

Los tejidos de expresión y la inducibilidad de los péptidos refleja su estructura genética (5). Se han descrito por comparación directa de secuencias y se ha encontrado que la defensina humana entérica (un tipo de péptido catiónico (HDS)) es expresada solo en las células de Paneth en el intestino. Secuencias





similares de genes se presentan en las defensinas mieloides (HNP-1/3, 2 y 4) que son constantemente expresadas en los promielocitos (5). Al igual que estas dos clases, gran cantidad de péptidos catiónicos (incluyendo más defensinas) se encuentran distribuidas por todo el cuerpo, con secuencias que discrepan un poco entre ellas y que son inducidas por diferentes factores, dependiendo el tejido de acción.

Mecanismos de acción de los péptidos catiónicos

El estudio de la actividad de los péptidos catiónicos se ha orientado básicamente en su capacidad de disrupción de las membranas citoplasmáticas (13). Sin embargo, de manera reciente se han incorporado nuevos estudios que destacan su participación en procesos inflamatorios y en procesos propios de la inmunidad adaptativa.

Entre las actividades mejor descritas se encuentran:

1. Actividad microbicida:

Los péptidos catiónicos funcionan como antimicrobianos de amplio espectro, con acciones anti fúngicos, anti endotóxina, antivirales envueltos, anti cáncer o como antiparasitarios (5). La característica mejor definida que tienen para poder actuar en toda esta variedad de espectros, es su función sobre la membrana celular (3,5,7). La base de la discriminación de sus propiedades no tóxicas hacia el hospedero, es la composición de lípidos de las membranas de los organismos que atacan, ya que los péptidos tienden a preferir membranas que poseen cargas negativas en la superficie y que están libres de colesterol, además de que estos organismos susceptibles tienen un potencial eléctrico transmembrana muy grande, en comparación con la que posee el hospedero (5).

En el caso de las bacterias Gram negativo, los péptidos interactúan al inicio con el LPS de la superficie y competitivamente desplazan los cationes divalentes que sirven de puente y, en particular, neutralizan la liberación del LPS. Esto causa la disrupción de la membrana externa y a la vez, permite a otros péptidos que ingresen al citoplasma bacteriano y actúen contra sitios internos. De igual manera, puede ocurrir la interacción de los péptidos con los fosfolípidos cargados negativamente de la membrana, lo cual promueve la formación de poros y en algunos casos, estos canales pueden causar un daño lo suficientemente fuerte como para desencadenar problemas severos de permeabilidad, causando la muerte bacteriana. En el caso de las bacterias Gram positivo, se ha planteado la interacción de los péptidos con el ácido lipoteicoico, lo cual evidencia también su gran participación en el control de sepsis por bacterias Gram positivo y no solo por agentes Gram negativo (11).





2. Actividad quimiotáctica en fagocitos y mastocitos:

Algunos péptidos catiónicos descritos, como las defensinas, han presentado actividad quicio atrayente hacia leucocitos, lo cual sugiere su contribución directa o indirecta en la movilización de células hacia el sitio inflamatorio donde se encuentra el patógeno, contribuyendo a impedir la diseminación del agente infeccioso (5).

3. Inducción de mediadores Inflamatorios:

Algunas α defensinas han mostrado tener la capacidad de inducir la degranulación de mastocitos y la liberación de histamina, aumentando la diapedesis y mejorando la respuesta inflamatoria (10).

4. Regulación de las funciones de fagocitos y el sistema del complemento:

Algunas α defensinas en humanos y otros animales pueden directamente activar la fagocitosis e inducir la producción de intermediarios del oxígeno, los cuales son potentes moléculas bactericidas y de igual manera, pueden activar al complemento por la vía alterna (10).

5. Neutralización de la endotoxina bacteriana (LPS) e inhibición del ácido lipoteicoico

6. Participación en la Inmunidad Adaptativa:

Aunque inicialmente se destacó la participación de los péptidos catiónicos en la inmunidad innata, nuevos estudios sugieren un rol muy importante en la inmunidad adaptativa y se les han atribuido propiedades como la interacción con las proteínas y los receptores de las células dendríticas inmaduras, la estimulación y la maduración de estas células y algunos efectos quimiotácticos sobre linfocitos T (10).

Todas estas actividades se encuentran mejor desarrolladas en algunas clases de péptidos que en otros y se expresan en tejidos distribuidos por todo el cuerpo. De igual manera, actividades similares se han descrito en diferentes especies de animales y algunas de ellas se encuentran conservadas entre especies.

Muchas de estas funciones se han evidenciado en estudios *in vitro* utilizando animales transgénicos. Sin embargo, existen evidencias *in vivo*, tanto en animales como en humanos (9), que demuestran el rol de los péptidos en la defensa. Por ejemplo, las defensinas son las proteínas más abundantes en los neutrófilos, representando casi un 15% del total de las proteínas dedicadas a matar células infectadas. Otros péptidos se han encontrado en la mucosa y en la superficie del epitelio del intestino, pulmón, riñones y piel.





Además, niveles incrementados de péptidos han sido observados en estados inflamatorios e infecciosos, ya sea en casos clínicos y de laboratorio.

Aplicaciones terapéuticas

El creciente problema de resistencia a los antibióticos por parte de gran cantidad de microorganismos, sobretodo de bacterias, ha marcado el camino hacia la búsqueda de nuevos métodos y vías terapéuticas de combate contra estos organismos. Aunado a esto, se encuentra el hecho de que cada vez más la expectativa de vida va en aumento, así como la cantidad de pacientes inmuno comprometidos (8). La propuesta de búsqueda de nuevos péptidos catiónicos o el uso de los péptidos ya descritos como potenciales drogas contra microorganismos, ha sido una idea bien acogida, lo cual se ve reflejado en la utilización de muchas presentaciones de productos sintéticos desde hace varios años. De igual manera, nuevos métodos para la producción a gran escala de los péptidos catiónicos naturales y su farmacología están en estudio.

Bibliografía

1. Delves, P. & Roitt, I.: The Immune System. N. Eng J. Med, 343:37, 2000.
2. Glynn, A. & Milne, C.: Lysozyme and immune bacteriolysis. Nature, 207: 1309, 1995.
3. Hancock, R., Falla, T. & Brown, M: Cationic bactericidal peptides. Adv. Microb. Physiol., 37: 135, 1995.
4. Hancock, R. & Chapple, D.: Peptide Antibiotics. Ant. Agents and Chemoth, 43:1317, 1999.
5. Hancock, R. & Diamond, G.: The role of cationic antimicrobial peptides in innate host defences. Trends in Microbiology, 8: 402, 2000.
6. Hancock, R. & Scott, M.: The role of antimicrobial peptides in animal defenses. PNAS, 97:8856, 2000.
7. Hans, B.: Peptide antibiotics and their role in innate immunity. An. Rev.Immunol. 13: 61, 1995.
8. Levy, O. : Antimicrobial proteins and peptides of blood: templates for novel antimicrobial agents. Blood, 96: 2664, 2000.
9. Peck, Y., et al. : Endogenous Antimicrobial Peptides and Skin Infections in Atopic Dermatitis. N. Engl. J. Med. 347: 1151, 2002.
10. Roitt, I., Brostoff, J. & Male, D.: Inmunología. 5ª edición Harcourt, 2000. Scott, M., Gold, M & Hancock, R. Interaction of Cationic Peptides with Lipoteichoic Acid and Gram-Positive Bacteria. Infection and Immunity, 67: 6445, 1999.
11. Yang, D., Biragyn, A., Hoover, D., Lubkowski, J. & Oppenheim, J.: Multiple Roles of Antimicrobial Defensins, Cathelicidins, and Eosinophil-Derived Neurotoxin in Host Defense. An. Rev. Immunol. 22:181, 2004.
12. Zasloff, M.: Antimicrobial peptides of multicellular organisms. Nature, 415: 389, 2002.

